Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 377-389

Improving the Antioxidant Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) under the Influence of Different Species of Mycorrhiza under Water Stress

M. Amani[1], M. Sabzi-Nojadeh[2]*, S. Alizadeh-Salteh[3], M. Younessi-Hamzekhanlu[4], B. Farmani[5], H. Hatef Heris[6], Sh. Mohammadian[7], S. Piretarighat[8]

Received: 04-04-2022 Revised: 13-07-2022 Accepted: 14-08-2022 Available Online: 14-08-2022	**How to cite this article:** Amani, M., Sabzi-Nojadeh, M., Alizadeh-Salteh, S., Younessi-Hamzekhanlu, M., Farmani, B., Hatef Heris, H., Mohammadian, Sh., & Piretarighat, S. (2023). Improving the antioxidant activities of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under the influence of different species of mycorrhiza under water stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), 377-389. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76064.1157

Introduction

Medicinal plants have long had a special role in the traditional agricultural system of Iran and the use of these plants as medicine to prevent and treat diseases has been considered by traditional medicine experts since ancient times. Medicinal plants with rich sources of secondary metabolites provide the basic active ingredients of many medicines. Although the biosynthesis of secondary metabolites is genetically controlled, but their construction is strongly influenced by environmental factors. One of the important climatic factors that affect the distribution of plants around the world and can cause morphological, physiological and biochemical changes in the plant is the lack of available water. Basil seems to show little resistance to water stress. For this reason, there is a need for protective mechanisms for the basil plant against stress due to water shortage. Plants are able to reduce or eliminate the effects of water shortage stress by coexisting with a number of soil microorganisms. Inoculation of the plants with Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has been exploited as an applicable strategy for reducing detrimental effects of water deficit stress. Present study was performed to evaluate the effects of three AMF on some physiological responses of *Ocimum basilicum* under water deficit stress.

Materials and Methods

The pot experiments were conducted as factorial based on completely randomized design blocks with three replications. The experimental factors were three AMF namely *Glomus etunicatum*, *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* and various soil moisture including severe stress, moderate stress, mild stress. Water stress

---

1 and 3- Ph.D Student in Production and Post-Harvest Physiology of Medicinal Plants and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
2 and 4- Assistant Professors, Department of Horticultural Science and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding Author Email: M.sabzi@tabrizu.ac.ir)
5- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Tabriz, Tabriz, Iran
6- Graduated MSc Student, Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
7 and 8- Graduated from Ahar School of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2022.76064.1157

was applied from the beginning to the end of flowering stage. After flowering stage, plants were harvested and traits such as total phenols and flavonoids, antioxidant capacity (DPPH), malondialdehyde (MDA), catalase and peroxidase enzymes were measured. To analyze the data, first the test of data normality and uniformity of variance within the treatment was performed and confirmed. The mean of treatments was compared by Duncan test at the level of 5% probability. SAS software (Ver. 9.3) was used to analyze the data and Excel software was used to draw the graphs.

Results and Discussion

The results of analysis of variance of the effect of mycorrhiza fungus and soil moisture on the studied parameters show that the effect of different levels of soil moisture on all traits was significant. The results of analysis of variance also showed that the effect of mycorrhiza on phenol and total flavonoids, antioxidant activity, catalase and peroxidase and malondialdehyde was significant at the level of one percent probability. According to the results of analysis of variance, the interaction effect of mycorrhiza on soil moisture on antioxidant activity was significant at 5% probability level and on total phenols and flavonoids, malondialdehyde, catalase and peroxidase at 1% probability level. Results showed that AMFs improve activity of catalase and peroxidase, antioxidant capacity and total phenols which led to decrease malondialdehyde content. Antioxidants as physiologically active compounds play an important role in plant resistance to stress. Increased oxygen species due to dehydration stress are a warning sign for plants and increase the activity of antioxidant enzymes. The plant's defense system increases the production of antioxidant enzymes to neutralize toxic oxygen forms, and fungi improve the intensity of this increase, which may be due to the chemical structure of the metal isoenzymes copper, zinc, and manganese. Factors sent to make antioxidant enzymes also contain the elements zinc and calcium. Mycorrhizal fungi increase the absorption of nutrients by sending more hormonal factors and increasing the activity of enzymes, all of which can be effective in increasing the activity of antioxidant enzymes.

Conclusion

When plants are exposed to dehydration stress, reactive oxygen species in them increase. The expression of antioxidant genes and the activity of antioxidants to eliminate reactive oxygen species are increased and the antioxidant defense system is improved and the tolerance to dehydration stress in the plant is increased. Scientists believe that peroxidase is involved in metabolic processes such as hormone catabolism, defense against pathogens, phenol oxidation, binding to cell structural proteins and cell wall polysaccharides. Present study revealed that application of AMFs can be good strategy for reducing harmful effects of water deficit stress in plants. Research has also shown that impregnating seeds with mycorrhiza increases antioxidants and reduces the amount of reactive oxygen species, a characteristic of resistance induction that occurs by this antagonist.

Keywords: Catalase enzyme, Dehydration, Flavonoid, Peroxidase enzyme, Total phenol

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۳۸۹-۳۷۷

بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی

مینا امانی[۱]- محسن سبزی نوجه‌ده[۲]*- سعیده علیزاده سالطه[۳]- مهدی یونسی حمزه‌خانلو[٤]- بیوک آقا فرمانی[۵]- حسین هاتف هریس[٦]- شیوا محمدیان[۷]- سودا پیرطریقت[۸]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳

چکیده

کمبود آب یکی از عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان می‌باشد که به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران به طرق مختلف باعث محدودیت کاشت گیاهان و کاهش عملکرد محصول می‌شود. بهره‌گیری از رابطه همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزای آربوسکول‌دار یکی از راهکارهای کاهش تنش کم‌آبی در گیاهان به شمار می‌رود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت تأثیر سطوح مختلف کم‌آبی به همراه سه گونه قارچ میکوریزا به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش کم آبی در سه سطح (تنش شدید: ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش متوسط: ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش ملایم: ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و تیمار شاهد: ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و سه گونه قارچ میکوریزا شامل *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Glomus etunicatum* به میزان ۳۰ گرم در هر گلدان و تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ) بود. مطابق نتایج به دست آمده افزایش سطح تنش کم‌آبی باعث کاهش رشد گیاهان گردید. همزیستی با میکوریزا باعث کاهش اثرات مخرب تنش کم آبی بر گیاه شد. با اعمال تنش کم‌آبی میزان مالون دی آلدهید، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل افزایش و فنول کل کاهش یافت. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان بیان کرد که *G. mosseae* در مقایسه با سایر گونه‌ها تأثیر بیشتری در بهبود اثرات سوء ناشی از تنش کم‌آبی در اکثر صفات مورد ارزیابی داشت. درحالی‌که تأثیر قارچ *G. intraradisce* بر فلاونوئید کل، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بالاتر از گونه *G. mosseae* بود. در نهایت نتایج مشخص کرد که استفاده از قارچ میکوریزا در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح با قارچ) می‌تواند ابزار مناسبی برای بهبود صفات فیزیولوژیکی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش کم‌آبی باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، فلاونوئید، فنول کل، کمبود آب

۱ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی تولید و پس از برداشت گیاهان باغی و دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲ و ۴- استادیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: M.sabzi@tabrizu.ac.ir)
۵- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۶- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۷ و ۸- دانش آموخته‌گان کارشناسی تولید و فراوری گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.76064.1157

مقدمه

افزایش جمعیت و نیاز مبرم صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولید دارو و اهمیت مواد مؤثره آن‌ها در صنایع مختلف، سبب کشت و تولید گیاهان دارویی شده است (Abdullaev and Espinosa-Aguirre, 2004). باتوجه‌به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولیدات صنایع مذکور، کشت گیاهان دارویی در کشور ایران نیز در حال گسترش می‌باشد. ریحان متعلق به راسته لامینال[1]، تیره نعناع[2] و جنس اوسیموم[3] با نام علمی *Ocimum basilicum* L. و نام انگلیسی Sweet Basil می‌باشد. ریحان به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولیک[4] (به‌خصوص رزمانیک اسید[5] و کافئیک اسید[6]) و فلاونوئیدها[7] شناخته می‌شود که امروزه در صنایع داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود (Omidbaigi *et al.*, 2003). باتوجه‌به گستردگی کشت ریحان در جهان، احتمال دارد این گیاه با تنش‌های غیر زنده محیطی مختلف از جمله تنش کم‌آبی در طول فصل رشد مواجه شود (Bairwa and Kaushik, 2010; Dadrasan *et al.*, 2015). تنش کمبود آب از جمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Koucheki *et al.*, 2012; Sharma and Kuhad, 2006). مطالعه‌های بسیاری در زمینه افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن طی تنش کمبود آب گزارش شده‌اند. گیاهان از طریق سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). بقاء گیاه در شرایط تنش، مستلزم توانایی آن در برابر شرایط اسمزی شدید حاصل از تنش کم‌آبی است. هزینه کودهای شیمیایی از یک سو و مسائل زیست محیطی مرتبط با مصرف غیراصولی آن‌ها از سوی دیگر، تفکر استفاده از شیوه‌های زیستی تثبیت عناصر برای تقویت رشد مخصوصاً در شرایط تنش را قوت بخشید (Smith *et al.*, 2010).

یکی از شیوه‌های زیستی برای بهبود شرایط رشد گیاهان در شرایط تنش استفاده از کودهای زیستی است. کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند نوع ارگانیسم مفید خاکزی و یا به‌صورت فراورده متابولیکی این موجودات است که به‌منظور تأمین عناصر غذایی موردنیاز گیاه در یک اکوسیستم زراعی بکار می‌رود (Darzi *et al.*, 2006). کودهای زیستی نظیر قارچ‌های میکوریزا نقش مهمی در کشاورزی پایدار دارند (Koucheki *et al.*, 2012). در حقیقت، قارچ‌های میکوریزا و همزیستی آن‌ها با گیاهان سبب تغییراتی در روابط آبی گیاه و درنتیجه، بهبود مقاومت به کم‌آبی یا تحمل در گیاه میزبان می‌شود (Habibzadeh *et al.*, 2015). قارچ‌های میکوریزا با جذب عناصرغذایی مانند فسفر و همچنین تعدیل اثر تنش‌های محیطی، کاهش آسیب‌های ریشه‌ای و تشدید فعالیت تثبیت زیستی نیتروژن سبب بهبود رشد گیاهان و افزایش عملکرد آن‌ها می‌شوند (Baum *et al.*, 2015). گزارش شده است قارچ میکوریزا از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نفوذپذیری غشا و افزایش تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان قادر به کاهش خسارت ناشی از تنش کم‌آبی است (Naseem and Bano, 2014). سابرامانیان و همکاران (Subramanian *et al.*, 2006) مشاهده نمودند که تلقیح میکوریزایی، صفات فیزیولوژیکی گیاهان را از طریق افزایش میزان مواد فتوسنتزی، تغییر در جریان مواد فتوسنتزی در ساقه‌ها و ریشه‌ها و نیز تأثیر بر جذب عناصر معدنی از خاک تحت تأثیر قرار می‌دهد. این موضوع موقعیت تغذیه‌ای بافت‌های گیاه میزبان را تغییر می‌دهد و باعث جذب بیشتر از طریق ریشه‌ها، فتوسنتز بالاتر و به‌دنبال آن، افزایش وزن خشک گیاه تحت شرایط تنش آبی می‌گردد.

لذا باتوجه‌به محدودیت منابع آبی در کشور، به نظر می‌رسد به‌کارگیری قارچ‌های میکوریزا کارایی تولید گیاهان دارویی مثل ریحان را در مقابله با تنش کمبود آب بهبود دهد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت‌تأثیر تنش کم‌آبی به همراه سه گونه قارچ میکوریزا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و فاکتورهای مورد بررسی

در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر تنش کمبود آب به همراه سه گونه قارچ میکوریزا بر روی صفات فیزیولوژیکی در گیاه دارویی ریحان، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. کشت و آماده‌سازی قارچ تریکودرما در زمستان ۱۳۹۸، کاشت، داشت، برداشت و اندازه‌گیری صفات در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز اجرا شد. مطالعات آزمایشگاهی نیز در پاییز ۱۳۹۹ در آزمایشگاه‌های پایه و عمومی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر

1- Laminale
2- Lamiaceae
3- *Ocimum*
4- Phenolic
5- Razmanic acid
6- Caffeic acid
7- Flavonoids

(دانشگاه تبریز) به‌منظور اندازه‌گیری صفاتی مانند ویژگی‌های فیزیولوژیکی انجام گرفت.

فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش رطوبتی و قارچ میکوریزا بودند که تنش کم‌آبی شامل چهار سطح (تنش شدید: ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش متوسط: ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ تنش ملایم: ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای؛ و تیمار شاهد: ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و قارچ میکوریزا شامل سه گونه *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae* و *Glomus etunicatum* به مقدار ۳۰ گرم در هر گلدان و تیمار شاهد (بدون قارچ) بود.

تکثیر میکوریزا

گونه‌های قارچ میکوریزا از گروه خاک‌شناسی دانشگاه تبریز تهیه شد که زادمایه قارچ‌های میکوریزا به روش گلدانی و با میزبان سورگوم تکثیر شده بودند (Auge, 2001). بدین منظور ابتدا خاک لوم شنی پس از عبور از الک دو میلی‌متری در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت دو ساعت استریل شده بودند و سپس با زادمایه قارچ به نسبت ۳۰ گرم (مخلوط اسپور، هیف قارچ و ریشه میکوریزا) با یک کیلوگرم خاک مخلوط و سپس بذور سورگوم بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد (به مدت ۱۰ دقیقه) در گلدان هفت کیلوگرمی کاشته شده بود. به‌منظور اطمینان از جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها در هر گلدان بیش از ۱۰ عدد بذر کاشته شده بود که بعد از حصول اطمینان از کلونیزاسیون ریشه‌ها تعداد گیاهان در هر گلدان به ۱۰ عدد کاهش یافته بود. گلدان‌ها در محیط گلخانه با طول روز ۱۶ ساعت و رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد و هشت ساعت شب با رطوبت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد از گذشت شش ماه، زادمایه آماده شده بود. در طول این مدت گیاهان با محلول غذایی راریسون[1] (عناصر ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز) با نصف مقدار فسفر تغذیه شده بودند. پس از قطع بخش هوایی، خاک گلدان به‌عنوان زادمایه قارچ‌های میکوریزا برداشت شده بود (Ali Asgharzad, 2000).

آماده‌سازی بذور جهت کشت

به‌منظور ضدعفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شد و سپس با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. همچنین برای کشت بذور ریحان، جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی بذرها تست جوانه‌زنی روی آن‌ها انجام گرفت.

نحوه کشت و تلقیح با قارچ

برای کشت از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به‌منظور کاشت بذرها، ابتدا دوسوم حجم گلدان با خاک لومی شنی پر شد، سپس ۳۰ گرم از مایه تلقیح روی سطح خاک پخش گردید. نهایتاً به اندازه چهار سانتی‌متر خاک روی آن اضافه شده و کشت بذرهای رقم بومی اهر که در باغات شهرستان اهر کشت و کار می‌شوند انجام شد. در پایان یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد. اولین آبیاری با آب شهری بلافاصله بعد از کشت انجام پذیرفت. جوانه‌زنی بذرها در محیط گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز گردید. در مرحله شروع گلدهی، تنش کمبود آب در سه سطح ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) تا سه هفته بعد از آن اعمال شد. اعمال تنش کم‌آبی به این صورت بود که گلدان‌ها به‌صورت روزانه توزین می‌شدند و نقصان رطوبتی در هر تیمار با آبیاری گلدان‌ها تا رسیدن به سطح تیمار موردنظر برطرف می‌شد. بر اساس بررسی منابع قبلی که انجام شده بود که تحمل تنش ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای برای گیاه ریحان بسیار مشکل و تنش‌زا بود و با بروز علائم بسیار مختصری از پلاسیدگی برگ‌ها، به نظر می‌رسید که با ادامه تنش، گیاه دچار مرگ شود. به همین دلیل در طول این سه هفته در هر زمانی که مشاهده می‌شد که گیاه توان تحمل تنش شدید را ندارد، همه تیمارهای تنش کم‌آبی به مدت یک یا دو روز متوقف می‌شد و آبیاری در حد ظرفیت زراعی انجام می‌شد تا گیاهان خود را بازیابی کنند و مجدداً اعمال تیمارها ادامه پیدا می‌کرد (Rahimi *et al.*, 2019). پس از اعمال تنش، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل صورت پذیرفت. همچنین رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با اسید فوشین برای بررسی کلونیزاسیون ریشه‌ها در زیر میکروسکوپ انجام شد (شکل ۱) (Kormanik and McGraw, 1982).

صفات مورد اندازه‌گیری

پس از رسیدن گیاهان به دوره کامل گلدهی، اندازه‌گیری صفات مختلف شامل فنول با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (Du *et al.*, 2009). فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Chang *et al.*, 2002). اندازه‌گیری مالون دی آلدهید به وسیله تست تیوباربیتوریک اسید[2] با سنجش میزان مالون دی آلدهید[3] انجام شد (Zheng *et al.*, 2005). برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH[4] استفاده شد (Dehghan and Khoshkam, 2012). سنجش فعالیت

1- Rarison

2- Thiobarbituric acid (TBA)
3- Malondialdehyde (MDA)
4- 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن صورت پذیرفت (Zhang *et al*., 2013). سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکول تشکیل شده از آن در نتیجه فعالیت پراکسیداز در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت (Chance and Maehly, 1955). درصد کلونیزاسیون نیز با روش Kormanik وMcGraw (Kormanik and McGraw, 1982) انجام گرفت.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

در ابتدا آزمون نرمال بودن باقی‌مانده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.3) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مربوط به تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و برهم‌کنش آن‌ها

نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل واریانس اثر قارچ میکوریزا و تنش کم‌آبی بر پارامترهای مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. طبق نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل میکوریزا در تنش کم‌آبی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال پنج درصد و بر صفات فنول و فلاونوئید کل، مالون دی آلدهید، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و برهم‌کنش آن‌ها

مقایسه میانگین اثر متقابل قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان فنول گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی کاهش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان فنول در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۱ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان فنول به ترتیب به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) گیاهان میکوریزایی *G.mosseae* (۸۹/۹۸ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) و تیمار تنش کم‌آبی ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان غیرمیکوریزایی (۵۸/۰۹ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) تعلق داشت.

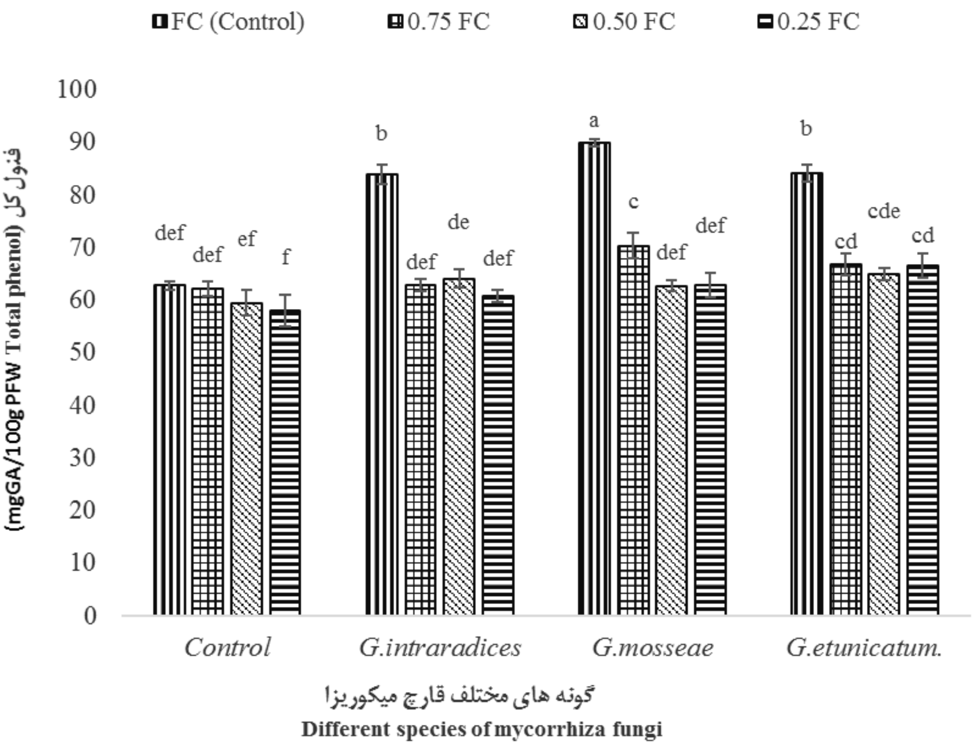
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا، تنش کم‌آبی و اثر متقابل بین دو فاکتور بر صفات اندازه‌گیری شده در ریحان

Table 1- Results of analysis of variance of the effect of different species of mycorrhizal fungi, soil moisture and the interaction between two factors on the traits measured in basil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Flavonoids	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	مالون دی آلدهید Malone di aldehyde	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme	درصد کلونیزاسیون (Percentage of colonization)
بلوک Block	2	13.74^{ns}	5.1^{ns}	0.19^{ns}	6.01^{ns}	96.71**	2.6**	10.76^{ns}
میکوریزا آربوسکولار Arbuscular mycorrhiza (AM)	3	290.8**	177.86**	3.86**	2361.12**	551.33**	16.42**	13.08^{ns}
تنش کم‌آبی Drougth stress (DS)	3	869.3**	858.49**	12.88**	4937.41**	1050.18**	14.74**	9.08^{ns}
AM×DS	9	78.39**	42.06**	0.65*	913.23**	102.87**	1.62**	2.79^{ns}
خطا Error	20	9.68	5.75	0.27	13.1	13.12	0.15	11.22
ضریب تغییرات C.V (%)	-	4.59	3.69	5.95	0.49	5.07	4.52	6.79

**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری

**, * and ^{ns}:significant at the 1% and 5% of probability level,and non-significant, respectively



شکل ۱- تأثیر بر همکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر فنول کل ریحان

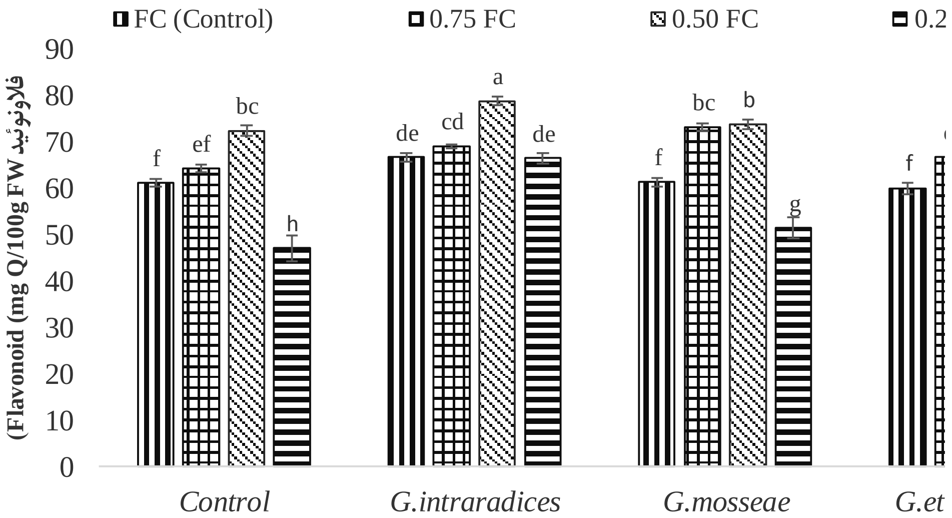
Figure 1- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on total basil phenol

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p\leq 0.05$).

افزایش محتوای فنول ریحان میکوریزایی نسبت به شاهد می‌تواند از یک‌سو دلیلی بر دخالت این ترکیبات در ایجاد همزیستی و از سوی دیگر نشان‌دهنده تحریک تولید آن‌ها توسط میکوریزا باشد. قارچ‌های میکوریزا با افزایش فعالیت آنزیمی متفاوت در گیاهان سبب تغییرات فیزیولوژیک در آن‌ها می‌شوند (Gill and Tuteja, 2010). افزایش انباشتگی فنول‌ها در گیاهان تیمار شده با قارچ می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز باشد. افزایش فعالیت آنزیمی گیاه (پلی فنول اکسیداز و پراکسیداز) می‌تواند در ارتباط با افزایش محتوای فنول کل در نمونه‌های تلقیح شده با قارچ باشد. نتایجی نشان داد که در شرایط کمبود تنش کم آبی میزان فنول گیاه دارویی گل آهار کاهش یافت، درحالی‌که کاربرد قارچ میکوریزای *G. mosseae* میزان فنول کل را در شرایط تنش کم‌آبی افزایش داد (Heidari *et al.*, 2016).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید کل به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G.intraradices* (۷۸/۸۵ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) تعلق داشت (شکل ۲). فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهمترین ترکیبات ثانویه گیاهان هستند. تجمع برخی از فلاونوئیدها، شاهدی بر وقوع تنش است. در موارد بسیاری، این مواد نقش آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان بخشی از پاسخ گیاه در برابر تنش بازی می‌کنند. همچنین این مواد در کاهش اثرات تشعشعات مضر و مواد سمی و همچنین تنظیم پاسخ گیاهان در برابر تنش از طریق کنترل انتقال اکسین‌ها نقش دارند (Tattini *et al.*, 2004).

نتایج مقایسه میانگین تأثیر برهمکنش میکوریزا در تنش کم‌آبی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شکل ۳ نشان‌داده‌شده است. باتوجه‌به شکل با اعمال تنش کمبود آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تنش متوسط کم‌آبی) بیشترین مقادیر آن مشاهده شد و تیمارهای میکوریزایی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شدند. بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۰/۳۳ درصد) مربوط به گونه قارچی *G. etunicatum* با تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای مشاهده شد و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون قارچ و رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای) با میانگین ۶/۶۴۶ درصد بود. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان ترکیبات فعال فیزیولوژیکی نقش مهمی را در مقاومت گیاهان به تنش دارند (Tattini *et al.*, 2004).



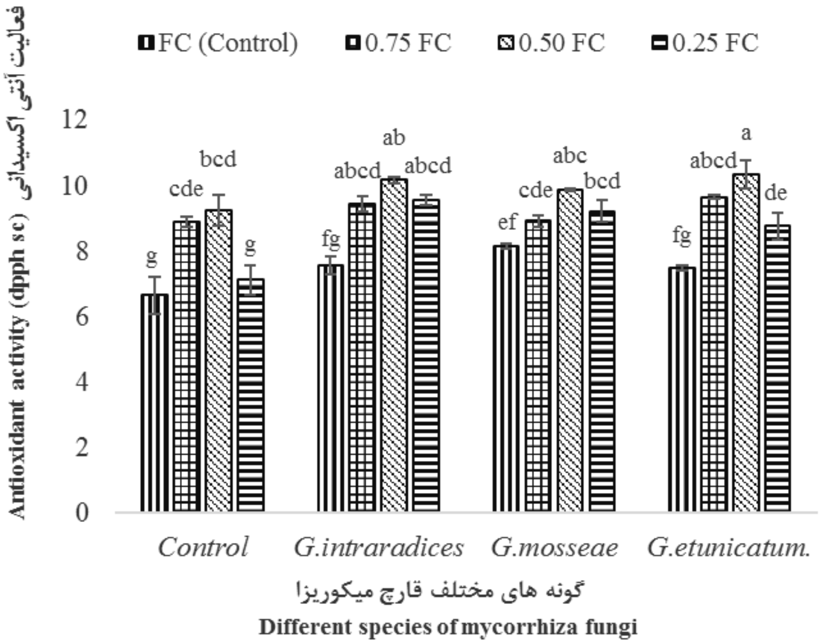
شکل ۲- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر فلاونوئید کل برگ ریحان

Figure 2- The interaction of effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on total flavonoids in basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش کم‌آبی زنگ خطری برای گیاهان محسوب شده و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان را به دنبال دارند (Siddiqui *et al.*, 2010). سیستم دفاعی گیاه تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را برای خنثی‌کردن شکل‌های سمی اکسیژن افزایش می‌دهد و قارچ شدت این افزایش را بهبود می-بخشند که می‌تواند به دلیل ساختمان شیمیایی ایزوآنزیم‌های فلزی مس، روی و منگنز باشد. همچنین فاکتورهای ارسالی برای ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز حاوی عناصر روی و کلسیم است (Ajay *et al.*, 2010). قارچ‌های میکوریزا با افزایش جذب عناصرغذایی سبب ارسال بیشتر فاکتورهای هورمونی و افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند که همگی در افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توانند مؤثر باشند. قارچ میکوریزا بر رشد دانهال‌های نارنج سه برگ تأثیر مثبت داشته است و میزان اکسیژن‌های فعال را در ریشه و برگ گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد کاهش داده است. میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاهان میکوریزایی افزایش معنی‌داری نشان داده است که همین موضوع آسیب‌های اکسیداتیو در این گیاهان را کاهش داده است (Wu and Xia, 2006).

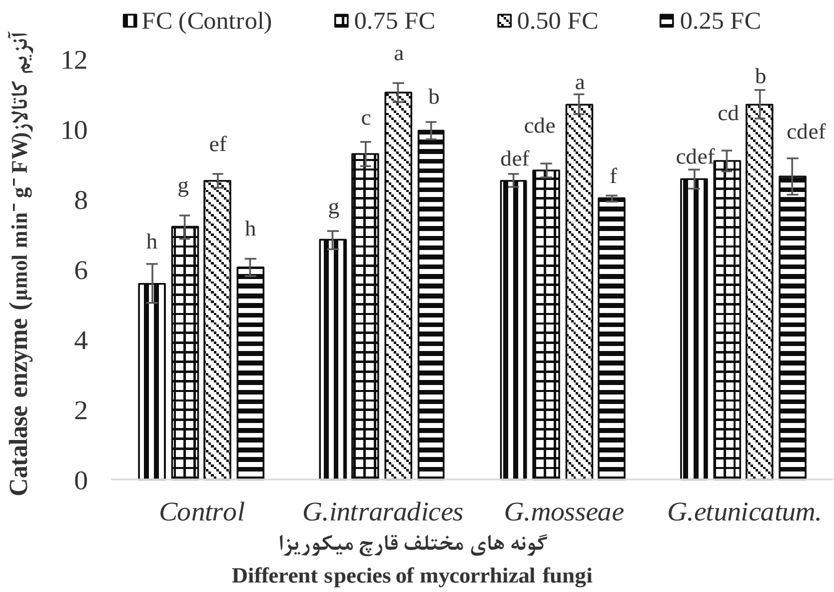
مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان آنزیم کاتالاز گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان آنزیم کاتالاز در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۴ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان آنزیم کاتالاز به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G. intraradices* (۱۱/۰۷ میکرو مول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) گیاهان غیرمیکوریزایی (۵/۶۲ میکرو مول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق دارد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در همه تیمارها و نیز تیمار بدون تلقیح، بالاترین مقدار آنزیم کاتالاز در تنش متوسط کم‌آبی تولید شد (Liu *et al.*, 2008). پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرایندی مهم برای محافظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، کم‌آبی، فلزات سنگین و سرما ایجاد می‌شود (Fazeli *et al.*, 2018). همچنین ممکن است با تخریب ناشی از پروتئازهای پراکسی زوم القا شده مرتبط باشد یا ممکن است پیامد غیرفعال شدن نوری آنزیم باشد (Liu *et al.*, 2008). در شرایط تنش افزایش متوسط فعالیت کاتالاز برگ در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا نشان می‌دهد تلقیح در این گیاهان قادر به افزایش فعالیت این آنزیم برای مقابله با خسارت اکسیداتیو ناشی از کمبود آب است، از این رو مایه‌های تلقیح قادر به تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند.



شکل ۳- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ ریحان

Figure 3- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on the antioxidant activity amount of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

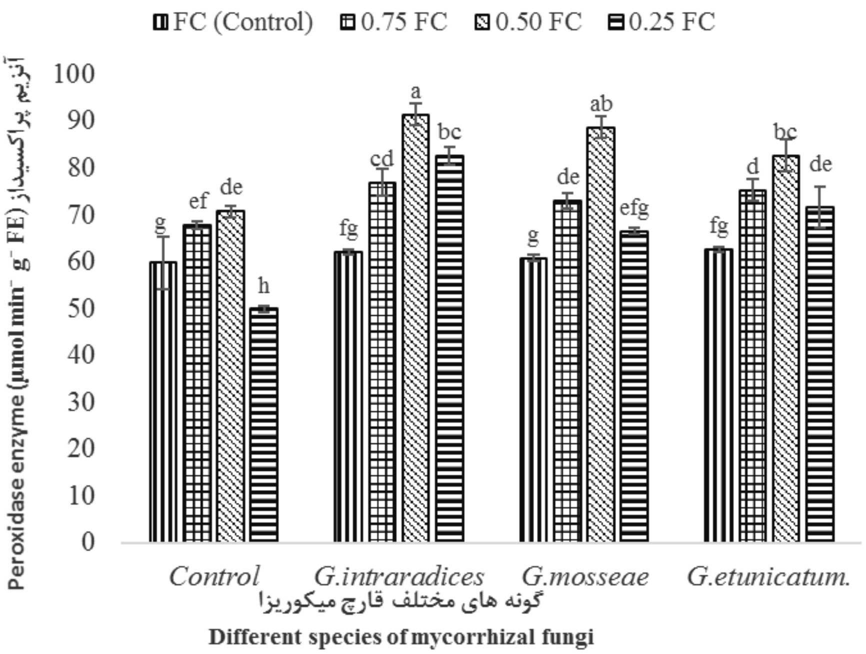


شکل ٤- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان آنزیم کاتالاز در برگ ریحان

Figure 4- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on catalase amount in basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان آنزیم پراکسیداز گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم‌آبی میزان آنزیم پراکسیداز در گیاهان میکوریزایی بیشتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان آنزیم پراکسیداز به ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان میکوریزایی *G. intraradices* (۹۱/۳۸ میکرو مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ و ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و گیاهان غیرمیکوریزایی (۴۹/۸۶ میکرو مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق دارد. پراکسیداز به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان، سلول را در برابر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن محافظت می‌کند. افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تنش کم‌آبی نشان‌دهنده شکل‌گیری بخش زیادی H_2O_2 در طول تنش کم‌آبی است. در پژوهش ایران خاک (Irankhak, 2014) نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که تیمار میکروارگانیسم‌ها و برهمکنش تنش کم‌آبی و میکروارگانیسم تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز گیاه داشت.



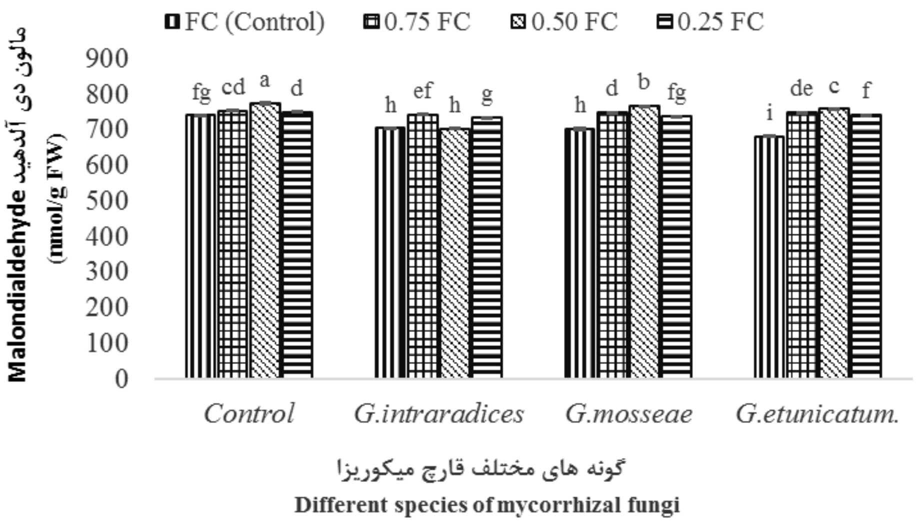
شکل ۵- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر میزان آنزیم پراکسیداز در برگ ریحان

Figure 5- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of drought stress on the peroxidase contect of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, *p≤0.05*).

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی در قارچ میکوریزا نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان مالون دی آلدهید گیاهان ریحان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت. در تمام سطوح تنش کم آبی میزان مالون دی آلدهید در گیاهان میکوریزایی کمتر از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. همان‌طور که در شکل ۶ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان مالون دی آلدهید به ترتیب به تیمار شاهد (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۷۷۴/۰۹ نانو مول بر گرم وزن تر بوته) و تیمار *G. etunicatum* (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۶۸۲/۳۳ نانو مول بر گرم وزن تر بوته) تعلق دارد. مالون دی آلدهید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپید به‌عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشای سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است؛ بنابراین مالون دی آلدهید به‌عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشا در شرایط تنش مورداستفاده قرار می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010; Jaleel *et al.*, 2007). افزایش تنش کم‌آبی باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌ها و پدید آمدن اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. این تنش ثانویه به علت ایجاد رادیکال های آزاد اکسیژنی است که در درون سلول تولید می‌شود. رادیکال-

های آزاد موجود در سلول باعث صدمه به لیپیدها و اسیدهای چرب غشا شده و رادیکال‌های لیپید و پراکسید و هیدروکسی تولید می‌کنند، رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند به واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها سرعت ببخشند (Mo *et al.*, 2016). گزارش شده است که اثر تنش کم‌آبی، غلظت مالون دی آلدهید در گونه‌های میکوریزی نسبت به شاهد کاهش می‌یابد، اما این کاهش در گونه‌های قارچ همزیست یکسان نیست (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011).



شکل ٦- تأثیر برهمکنش گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر محتوی مالون دی آلدهید در برگ ریحان

Figure 6- The interaction effect of different species of mycorrhizal fungi at different levels of soil moisture on malondialdehyde content of basil leaf

The index above each column indicates the standard error (DMRT, $p \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیکی نشان داد که قارچ میکوریزا باعث افزایش مقدار فنول و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و کاهش مالون دی آلدهید در گیاه ریحان شدند. همچنین نتایج نشان داد که قارچ *G. mosseae* در اکثر صفات مورد بررسی روی گیاه ریحان بهتر عمل کرده است. بنابراین می‌توان گفت گونه *G. mosseae* توانایی بهتری جهت برقراری رابطه همزیستی با ریشه ریحان دارد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که تنش کم‌آبی، قارچ میکوریزا و اثر متقابل قارچ و تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریحان داشتند.

منابع

1. Abdullaev, F.I., & Espinosa-Aguirre, J.J. (2004). Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detection and Prevention*, *28*(6), 426-432. https://doi.org/10.1016/j.cdp.2004.09.002
2. Ajay, A., Sairam, R.K., & Srivastava, G.C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, *8282*(10), 122-123.
3. Ali Asgharzad, N. (2000). *Distribution and population density of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of Tabriz plain and determining the effects of inoculation on improving onion and barley tolerance to salinity stress*. Ph.D Disertation, Faculty of Agriculture, University of Tehran. (In Persian)
4. Auge, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis, *Mycorrhiza*, *11*(1), 30-42. https://doi.org/10.1007/s005720100097
5. Bairwa, R.C., & Kaushik, M.K. (2010). Response of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties to fertility levels and growth regulators on productivity, profitability and quality. *Journal of Progressive Agriculture*, *1*(1), 65-67.
6. Baum, C., El-Tohamy, W., & Gruda, N. (2015). Increasing the productivity and product quality of vegetable crops

using arbuscular mycorrhizal fungi, *A review. Scientia Horticulturae*, *187*, 131-141. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.002

7. Chance, B., & Maehly, A.C. (1955). *Assays of Catalases and Peroxidases*. In: Methods in Enzymology, (Colowick, S.P. and Kaplan, N.O., eds.) Academic Press, New York, 764-775. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8
8. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182.
9. Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabaee, A.A., Yazdani, D., & Keshavarz-Afshar, R. (2015). Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and *Trigonelline* production of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, *77*, 156-162. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.040
10. Darzi, M.T., Ghalavand, A., Rejali, F., & Sefidkon, F. (2006). Effects of Biofertilizers Application on Yield and Yield Components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *22*(4), 276-292. (In Persian)
11. Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *131*(2), 422-427. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074
12. Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, *113*(2), 557-562. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.025
13. Fazeli, A., Zarei, B., & Tahmasebi, Z. (2018). The effect of salinity stress and salicylic acid on some physiological and biochemical traits of Black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(4), 69-83. (In Persian). https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.104605.1029
14. Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
15. Habibzadeh, Y., Jalilian, J., Zardashti, M.R., Pirzad, A., & Eini, O. (2015). Some morpho-physiological characteristics of Mung Bean mycorrhizal plant under different irrigation regimes in field condition. *Journal of Plant Nutrition*, *38*(11), 1754-1767. https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1043374
16. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S., & Fujita, M. (2013). Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, *4*(1), 209-250. https://doi.org/10.1002/9783527675265.ch09
17. Heidari, Z., Nazarideljou, M.J., Rezaie Danesh, Y., & Khezrinejad, N. (2016). Morphophysiological and biochemical responses of *Zinnia elegans* to different irrigation regimes in symbiosis with *Glomus mosseae*. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *3*(1), 19-32.
18. Irankhah, S. (2014). *The effect of Arbuscular mycorrhiza vesicular fungus and growth-promoting bacteria and drought stress on morphophysiological and biochemical properties of fenugreek*. Master Thesis in Plant Physiology, Faculty of Science, Department of Biology, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
19. Jaleel, C.A., Gopi, B., Sankar, P., Manivannan, A., Kishorekumar, R.S., & Panneers, L. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African Journal of Botany*, *73*(2), 190-195. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.11.001
20. Kormanik, P.P., & McGraw, A.C. (1982). Quantification of vesicular-arbusculare mycorrhiza in plant roots. In: N. C. Schneck(ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. *American Phytopathological Society*, 37-45.
21. Koucheki, A., Nasiri Mohalati, M., Mondani, F., & Khorramdel, S. (2012). *New Aspect on Ecological physiological aspects of crop plants*, 1st ed. Ferdowsi Mashhad University. Press, Ferdowsi Mashhad (Iran) pp. 613.
22. Liu, J., Xie, X., Du, J., Sun, J., & Bai, X. (2008). Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulturae*, *115*(2), 190-195. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.003
23. Mo, Y., Wang, Y., Yang, R., Zheng, J., Liu, C., Li, H., & Zhang, X. (2016). Regulation of plant growth, photosynthesis, antioxidation and osmosis by an arbuscular mycorrhizal fungus in watermelon seedlings under well-watered and drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 644. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00644
24. Naseem, H., & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 689-701. https://doi.org/10.1080/17429145.2014.902125
25. Omidbaigi, R., Hassani, A., & Sefidkon, F. (2003). Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential oil Bearing Plants*, *6*(2), 104-108. https://doi.org/10.1080/0972-060X.2003.10643335
26. Rahimi, Y., Taleei, A., & Ranjbar, M. (2019). Biochemical changes of peppermint under drought stress condition. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *50*(2), 59-75. (In Persian). http://dx.doi.org/10.22059/ijfcs.2018.239868.654367
27. Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., de Salamone, I. E. G., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J. M., & Azcón, R. (2011). Azospirillum and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, *168*(10), 1031-1037.

https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.12.019

28. Sharma, K.D., & Kuhad, M.S. (2006). Influence of potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of *Brassica* species. *Brassica Journal*, *8*, 71-74.
29. Siddiqui, M.H., Mohammad, F., Khan, M.N., Al-Whaibi, M.H., & Bahkali, A.H. (2010). Nitrogen in relation to photosynthetic capacity and accumulation of osmoprotectant and nutrients in *Brassica genotypes* grown under salt stress. *Agricultural Sciences in China*, *9*(5), 671-680. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60142-5
30. Smith, S.E., Facelli, E., Pope, S., & Andrew Smith, F. (2010). Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, *326*, 3-20. https://doi.org/10.1007/s11104-009-9981-5
31. Subramanian, K.S., Santhanakrishnan, P., & Balasubramanian, P. (2006). Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*, *107*(3), 245-253. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.07.006
32. Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D., & Agati, G. (2004). Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist*, *163*(3), 547-561. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01126.x
33. Wu, Q.S., & Xia, R.X. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, *163*(4), 417-425. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.04.024
34. Zhang, Z., Huber, D.J., & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, *76*, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.003
35. Zheng, X.L., Tian, S.P., Xu, Y., & Li, B.Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*, *22*(4), 351-355. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.016